





Use of a nerve growth factor antagonist for the manufacture of a medicament for the prevention or treatment of chronic visceral pain

Patent number: FR2807660
Publication date: 2001-10-19
Inventor: DELAFOY LAURE; DIOT LAURENT
Applicant: WARNER LAMBERT CO (US)
Classification:
- **International:** **A61K31/00; A61K31/473; C07K16/22; A61K31/00; A61K31/473; C07K16/18; (IPC1-7): A61K31/473; A61P1/06; A61P1/14; A61P1/18; A61P15/08**
- **European:** A61K31/00; A61K31/473; C07K16/22
Application number: FR20000004782 20000413
Priority number(s): FR20000004782 20000413; US20020269285 20021011

Also published as:

 WO0178698 (A3)
 WO0178698 (A2)
 US2004071701 (A1)
 CA2404117 (A1)

Report a data error here

Abstract of FR2807660

Treating chronic visceral pain, comprising using a nerve growth factor (NGF) antagonist, preferably antibody, is new.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

BEST AVAILABLE COPY

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①⑪ N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 807 660

②① N° d'enregistrement national : **00 04782**

⑤① Int Cl⁷ : A 61 K 31/473, A 61 P 15/08, 1/06, 1/18, 1/14

①⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 13.04.00.

③⑩ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 19.10.01 Bulletin 01/42.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥⑩ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : WARNER LAMBERT COMPANY —
US.

⑦② Inventeur(s) : DELAFOY LAURE et DIOT LAURENT.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : CABINET HARLE ET PHELIP.

⑤④ UTILISATION D'ANTAGONISTES DU NGF POUR LA PREVENTION OU LE TRAITEMENT DE DOULEURS
VISCERALES CHRONIQUES.

⑤⑦ Utilisation d'un composé antagoniste du facteur de
croissance des nerfs (NGF) pour la fabrication d'un médica-
ment destiné à la prévention ou au traitement des douleurs
viscérales chroniques et compositions pharmaceutiques
correspondantes.

FR 2 807 660 - A1



Domaine de l'invention

La présente invention est relative à l'utilisation d'antagonistes du NGF pour la prévention ou le traitement des douleurs viscérales chroniques, telles que les douleurs
5 viscérales chroniques dues à un désordre physiologique, par exemple la dysménorrhée, la dyspepsie, le reflux gastro-oesophagien, la pancréatite, les viscéralgies ou encore le syndrome de l'intestin irritable.

Arrière plan technologique

10

Il existe deux catégories générales de médicaments pour le traitement de la douleur qui présentent toutes deux des inconvénients :

(1) les composés thérapeutiques anti-inflammatoires non stéroïdiques, utilisés pour traiter des douleurs légères, mais dont l'utilisation thérapeutique dans la sphère
15 viscérale est limitée par des effets gastro-intestinaux indésirables, tels que l'érosion gastrique, la formation d'ulcère peptique ou encore l'inflammation du duodénum et du côlon;

(2) la morphine et les opioïdes apparentés, utilisés pour traiter les douleurs modérées à sévères mais dont l'utilisation thérapeutique est limitée du fait d'effets
20 indésirables tels que la constipation, des dépressions respiratoires, ainsi que le risque d'accoutumance.

Il existe donc un besoin d'identification de composés capables de soulager sans effet secondaire le patient souffrant de douleurs chroniques, et particulièrement de douleurs viscérales chroniques.

25

Bien que les mécanismes précis des douleurs viscérales diffèrent selon les organes et les systèmes d'organes, deux principes s'appliquent de manière commune à toutes les douleurs viscérales.

Selon un premier principe, les mécanismes neurologiques des douleurs viscérales
30 diffèrent de celles impliquées dans les douleurs somatiques et ainsi les résultats expérimentaux disponibles concernant les douleurs somatiques ne peuvent être extrapolés a priori aux douleurs viscérales.

Selon un second principe, la perception des douleurs viscérales par le patient et le processus psychologique auquel il est soumis diffèrent de ceux rencontrés dans le cas des
35 douleurs somatiques.

Parmi les douleurs viscérales, on peut de plus distinguer les douleurs viscérales aiguës et les douleurs viscérales chroniques. En général, les douleurs viscérales aiguës sont associées à une situation inflammatoire et sont d'ailleurs assimilées par l'homme de l'art à des douleurs dites inflammatoires. L'étude de la physiologie des douleurs viscérales aiguës est ainsi réalisée dans une situation inflammatoire induite expérimentalement.

Il ressort des constatations ci-dessus que les mécanismes impliqués dans des situations physiopathologiques différentes, telles que les douleurs viscérales aiguës et les douleurs viscérales chroniques, bien que non connus à ce jour, sont distincts.

Ceci est de plus confirmé par le fait que les classes de composés thérapeutiques candidats pour traiter l'un ou l'autre type, aiguë ou chronique, de douleur viscérale sont différentes.

Dans le cas des douleurs viscérales chroniques, les composés thérapeutiques candidats suggérés sont notamment les composés suivants :

- (1) Les antagonistes 5-HT qui inhibent la liaison de la sérotonine aux récepteurs du type 5-HT.
- (2) Les antagonistes de la cholécystokine (CCK).
- (3) Les substances opioïdes.
- (4) Les facteurs hypothalamiques, tels que les analogues de la somatostatine ou encore les analogues de l'hormone de libération de la gonadotrophine.

Peu de médicaments sont donc connus pour agir de manière sélective sur l'hypersensibilité liée aux troubles gastro-intestinaux (FARTHING M.J., 1998, Drugs, vol.56: 11-21).

Résumé de l'invention

Les inventeurs se sont attachés à trouver des composés capables de soulager le patient souffrant de douleurs viscérales chroniques et donc d'agir sur au moins l'une des cibles physiologiquement impliquées dans la manifestation de ces douleurs viscérales chroniques, lesquelles cibles étaient inconnues avant l'invention.

Un aspect de l'invention réside en la capacité des composés antagonistes de NGF à soulager le patient souffrant de douleurs viscérales chroniques.

Il a été montré conformément à l'invention que des composés antagonistes du facteur de croissance des nerfs (NGF) étaient capables d'inhiber ou de bloquer l'hypersensibilité viscérale présente dans la pathophysiologie des troubles fonctionnels viscéraux, dans le cas de douleurs chroniques.

Selon l'invention, on entend par troubles fonctionnels viscéraux chroniques, des troubles de la sensibilité des viscères ayant une origine nerveuse, également connus sous le nom de viscéralgie. Les viscères incluent les organes digestifs, respiratoires, uro-génitaux et les systèmes endocriniens, ainsi que la rate, le coeur et les grands vaisseaux.

Du point de vue médical, une viscéralgie chronique se caractérise par un seuil de sensibilité à la douleur abaissée par rapport à la normale, en réponse à des stimuli mécaniques externes.

Les douleurs viscérales chroniques se caractérisent en outre par une absence de situation inflammatoire concomitante aux troubles fonctionnels.

Au sens de l'invention, les douleurs viscérales chroniques incluent les troubles chroniques suivants :

- la dyspepsie chronique, trouble fonctionnel de la digestion survenant en l'absence de lésion organique décelable et qui peut être symptomatique d'autres maladies ou d'autres troubles;

- la dysménorrhée chronique, caractérisée par des douleurs associées à la menstruation ;

- la pancréatite chronique, que caractérisent un amaigrissement rapide, l'asthénie, la douleur au point pancréatique, un ictère avec distension de la vésicule biliaire et les troubles digestifs dus à l'insuffisance pancréatique, y compris la pancréatite chronique héréditaire, maladie à transmission autosomique dominante se manifestant dès l'enfance par des crises douloureuses abdominales et récidivantes et caractérisée chez l'adulte par des signes d'insuffisance ainsi que par des calcifications du pancréas;

- le reflux gastro-oesophagien chronique, qui se caractérise par un retour dans l'oesophage du contenu gastrique acide et qui provoque, généralement après un repas des brûlures rétrosternales ascendantes, parfois accompagnées de régurgitations acides;

- le syndrome IBS ("irritable bowel syndrome" en anglais ou syndrome de l'intestin irritable), qui est une maladie chronique non inflammatoire caractérisée par une douleur abdominale et des diarrhées et/ou des constipations, sans modification anatomo-pathologique détectable.

Les critères de diagnostic pour le syndrome IBS sont (1) une douleur abdominale ou un inconfort qui est soulagé par la défécation et qui est associé à une modification de la fréquence ou de la consistance des selles et (2) un profil irrégulier de défécation caractérisé par au moins trois des phénomènes suivants: (a) fréquence des selles affectée, (b) forme des selles altérée, (c) passage des selles affecté, (d) passage de mucus, et (e) sensation de distension abdominale.

Les douleurs viscérales chroniques, en particulier les douleurs gastro-intestinales, sont caractérisées par une perception anormale de divers stimuli externes chez les patients ou chez l'animal. Cette perception anormale des stimuli externes peut être définie comme
5 un abaissement du seuil de sensibilité du patient ou de l'animal à ces stimuli externes, par rapport à un sujet en bonne santé.

Cette condition physiopathologique dans laquelle un stimulus non douloureux dans les conditions normales est perçu comme douloureux et qui correspond à un abaissement du seuil de sensibilité est appelée allodynie.

10

Il a ainsi été montré selon l'invention que l'administration d'un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF), à un sujet souffrant de douleurs viscérales chroniques, permettait d'abolir l'abaissement du seuil de sensibilité de ce sujet à des stimuli externes, avec retour à un seuil de sensibilité comparable à celui observé chez
15 un sujet sain témoin.

Par ailleurs, on a également montré selon l'invention que des composés antagonistes des neurotrophines distinctes du NGF, comme le BDNF ("brain-derived neurotrophic factor") ou encore le TGF- β ("T-cell growth factor- β ") sont incapables d'abolir l'abaissement du seuil de sensibilité chez le sujet souffrant de douleurs viscérales
20 chroniques. L'action des antagonistes du NGF selon l'invention s'avère donc spécifique.

La présente invention a donc notamment pour objet l'utilisation d'un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement des douleurs viscérales chroniques.

25 L'invention concerne notamment l'utilisation d'un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) qui se lie audit facteur de croissance des nerfs.

L'invention concerne préférentiellement l'utilisation d'un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) qui est un anticorps se liant spécifiquement au
30 facteur de croissance des nerfs (NGF).

L'invention concerne également l'utilisation d'un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) qui se lie au récepteur Tyrosine kinase A du facteur de croissance des nerfs.

35

L'invention consiste aussi en l'utilisation d'un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) se liant soit au NGF, soit au récepteur Tyrosine kinase A du NGF pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement des

douleurs viscérales chroniques dues à un désordre physiologique tel que la dysménorrhée, la dyspepsie, le reflux gastro-œsophagien, la pancréatite, les viscéralgies et le syndrome de l'intestin irritable.

5 Un autre aspect de l'invention est une composition pharmaceutique pour la prévention ou le traitement des douleurs viscérales chroniques, caractérisée en ce qu'elle comprend une quantité pharmaceutiquement efficace d'un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF), en association avec un ou plusieurs excipients pharmaceutiquement acceptables.

10

 Une composition pharmaceutique selon l'invention contient notamment un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) qui se lie audit facteur de croissance des nerfs.

15

 Une composition pharmaceutique selon l'invention contient préférentiellement un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) qui est un anticorps se liant spécifiquement au facteur de croissance des nerfs (NGF).

20

 Une autre composition pharmaceutique selon l'invention contient un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) qui se lie au récepteur tyrosine kinase A du facteur de croissance des nerfs.

25

 Une composition pharmaceutique selon l'invention est caractérisée en ce qu'elle est destinée à la prévention ou au traitement des douleurs chroniques viscérales dues à un désordre physiologique tel que la dysménorrhée, la dyspepsie, le reflux gastro-œsophagien, la pancréatite, les viscéralgies et le syndrome de l'intestin irritable.

30

 De façon préférée, une composition pharmaceutique selon l'invention est formulée pour l'administration orale.

Brève description des figures

35

 La figure 1 illustre l'effet du NGF injecté de manière intrapéritonéale à différentes doses sur le seuil de la douleur du côlon. Les résultats sont exprimés comme la moyenne plus ou moins la moyenne de l'erreur standard (SEM) des valeurs de pression. Le test effectué est un test de Student bilatéral, du type variance inégale à 2 exemples. ns signifie non significatif, ** signifie P inférieur à 0,01 et *** signifie P inférieur à 0,001.

La figure 2 illustre l'effet de différents anticorps, respectivement un anticorps anti-NGF, un anticorps anti-BDNF et un anticorps anti-TGF β sur le seuil de la douleur du côlon chez des rats traités préalablement par le TNBS (acide trinitro-benzène sulfonique). Les résultats sont exprimés comme la moyenne plus ou moins la moyenne de l'erreur standard (SEM) des valeurs de pression mesurées. Le test effectué est un test de Student bilatéral, du type variance inégale à 2 exemples. *** signifie P inférieur à 0,001.

Description détaillée

Par "antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF)", on entend un composé capable d'inhiber la liaison du facteur de croissance des nerfs (NGF) à son récepteur, la tyrosine kinase A (TrkA). C'est à dire :

a) Les composés antagonistes du NGF selon l'invention incluent les composés capables de se lier spécifiquement au NGF et d'empêcher ainsi sa liaison au récepteur TrkA.

b) Font également partie des composés antagonistes du NGF au sens de l'invention, les composés capables de se lier spécifiquement au récepteur TrkA du NGF empêchant également la liaison du NGF à son récepteur.

Un premier groupe de composés antagonistes comprend des anticorps se liant spécifiquement soit au facteur de croissance des nerfs (NGF), soit au récepteur TrkA, tels que ceux décrits dans la demande PCT N° WO 97/21732, dont l'enseignement est intégré dans la présente description.

Dans le cas d'un anticorps spécifique du NGF, on peut également citer l'antisérum anti-2.5S-NGF purifié, commercialisé par la Société Sigma Chemicals (USA), notamment sous la référence N 6655.

En ce qui concerne la dose soit d'un anticorps se liant spécifiquement au NGF, soit d'un anticorps se liant spécifiquement au récepteur TrkA du NGF, cet anticorps sera administré de préférence à raison de 1 à 10 μ g/kg du poids du patient par dose administrée. Ce traitement des douleurs viscérales chroniques nécessite en général plusieurs administrations successives de l'anticorps, par exemple sur des intervalles de temps allant de une à quatre semaines.

Par patient on entend un mammifère et préférentiellement l'homme.

Le terme "anticorps" inclut les anticorps polyclonaux et monoclonaux, ainsi que les fractions d'anticorps, par exemple F(ab) $'_2$ ou Fab, les fragments d'anticorps simple chaîne (ScFv), les anticorps chimères ou encore les anticorps humanisés.

Un deuxième groupe de composés antagonistes de l'invention comprend des molécules de synthèse.

A titre d'exemple, on peut citer les antagonistes de la neurotrophine décrits dans la demande PCT N° WO 98/17278, des peptides dérivés du NGF à effet antagoniste, tels que ceux décrits dans la demande PCT N° WO 89/09225 et des peptides bicycliques antagonistes du NGF tels que ceux décrits dans la demande PCT N° WO 97/15593. L'enseignement des divers brevets cités ci-dessus est intégré dans la présente description.

Parmi ces molécules de synthèse on compte des composés antagonistes du facteur de croissance des nerfs (NGF) constitutif d'une composition pharmaceutique selon l'invention choisis parmi les composés se liant audit facteur de croissance des nerfs.

Les composés antagonistes du NGF peuvent également être des composés se liant au récepteur TrkA du NGF.

Les composés antagonistes du NGF mis en oeuvre selon l'invention comprennent les solvates, les hydrates et tous sels pharmaceutiquement acceptables de tels composés.

Les sels pharmaceutiquement acceptables d'un composé antagoniste du NGF utilisés selon l'invention comprennent l'acétate, le benzène sulfonate, le benzoate, le bitartrate, l'acétate de calcium, le camsylate, le carbonate, le citrate, l'édétate, l'edisylate, l'estolate, l'ésylate, le fumarate, le gluceptate, le gluconate, le glutamate, le glycoloylarsanilate, l'hexylresorcinate, l'hydrabamine, le bromohydrate, le chlorhydrate, l'hydrogénocarbonate, ainsi que les autres sels décrits dans la revue de BERGE et al. (1977, J. Pharm. sci., vol.66: 1-19).

Une composition pharmaceutique selon l'invention est avantageusement produite en formulant le composé antagoniste du NGF dans une forme de dosage comprenant au moins un excipient ou véhicule pharmaceutiquement acceptable. Pour préparer une composition pharmaceutique selon l'invention, les véhicules pharmaceutiquement acceptables peuvent être indifféremment solides ou liquides.

De préférence, une composition pharmaceutique selon l'invention est caractérisée en ce qu'il s'agit d'une formulation pour l'administration orale.

Des formes de dosages solides pour administration orale incluent les gélules, les comprimés, les pilules, les poudres et les granules.

D'une manière générale, les véhicules pharmaceutiquement acceptables utiles pour la préparation d'une composition pour l'administration *in vivo* sont notamment décrits dans le "REMMINGTON's Pharmaceutical Sciences, 17ème édition, Mack Publishing Company, Easton, Pen., 1985".

De préférence, le composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) est utilisé pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement des

douleurs viscérales chroniques dues à un désordre physiologique tel que la dysménorrhée, la dyspepsie, le reflux gastro-oesophagien, la pancréatite, les viscéralgies ou le syndrome IBS.

5 L'invention a aussi pour objet une composition pharmaceutique pour la prévention ou le traitement des douleurs viscérales chroniques, caractérisé en ce qu'elle comprend une quantité pharmaceutiquement efficace d'un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF), le cas échéant en association avec un ou plusieurs excipients pharmaceutiquement acceptables.

10 Par "quantité pharmaceutiquement efficace" d'un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs on entend, selon l'invention, une quantité dudit composé antagoniste capable d'abolir, chez le sujet considéré, l'abaissement du seuil de sensibilité à des stimuli externes avec retour de ce seuil de sensibilité à un niveau comparable à celui observé chez le sujet sain.

15 A titre illustratif, un composé décrit comme antagoniste des neurotrophines dans la demande PCT N°WO 98/17278 sera avantageusement utilisé en des quantités lui permettant d'atteindre une concentration dans le liquide spinal comprise entre 1 et 500 μ M.

De manière générale lorsqu'il n'est pas un anticorps, un composé antagoniste du NGF utilisé selon l'invention sera administré à raison de 0,1 à 300 mg/kg du poids du patient répartis en une à trois prises.

20 Pour un patient adulte de poids normal, on administrera de préférence des doses allant de 5 à 500 mg par prise.

L'invention est en outre illustrée, sans pour autant être limitée, aux figures et aux exemples suivants.

25

Exemples :

A- Matériels et méthodes :

30

A.1. Animaux

Des rats mâles adultes de la souche Wistar d'un poids de 320 à 350 g (provenant de l'élevage Janvier, Legenest-Saint-Isle, France) ont été utilisés pour l'ensemble des expériences. Ils ont été maintenus dans des conditions de température (20 \pm 1°C), d'hygrométrie (50 \pm 5%) et d'illumination (lumière de 7 à 19 heures) contrôlées. Les animaux ont été privés de nourriture 18 heures avant le début des expériences, l'approvisionnement en eau étant maintenu.

35

A.2. Etude comportementale

Des études de distension ont été réalisées sur des rats éveillés, en mode isobarique, en utilisant des incréments de pression de 5 mm de mercure toutes les trente secondes. Un ballon en latex, placé dans la partie distale du côlon est lié à un barostat électronique. Le seuil de douleur est défini comme la pression induisant la première contraction abdominale. Chaque rat est soumis à quatre essais de distension afin d'accroître la reproductibilité du test. La moyenne des valeurs de pression est calculée sur les seuils observés pour les quatre distensions successives.

A.3. Administration de TNBS

Une laparotomie est réalisée sur les rats anesthésiés par un mélange d'acepromazine (12 mg/kg i.p.) et de kétamine (80 mg/kg i.p.) afin d'injecter dans le côlon proximal l'acide trinitrobenzène sulfonique TNBS (50 mg/kg) dans l'éthanol à 30%. Puis les rats sont placés dans des cages individuelles. L'expérience de distension du côlon est réalisée sept jours après l'administration de TNBS.

A.4. Administration de NGF, d'anticorps anti-NGF, anti-BDNF et anti-TGFβ.

Le 2.5 S-NGF provenant de la glande sous-maxillaire de souris (commercialisée par la Société SIGMA sous la référence N-6009) est dissous dans la sérum albumine bovine (BSA) à 0,1%. Chez les rats naïfs, 10 ng de NGF sont injectés par la voie i.p., 30 minutes avant la distension.

L'anticorps anti-NGF commercialisé par la Société SIGMA sous la référence N-6655 est un antisérum fractionné dirigé contre le 2.5 S-NGF. L'anticorps anti-NGF, à la dilution 1/2000 dans de l'eau stérile, a été injecté par la voie i.p. dans un volume de 1 à 2 ml/kg, 30 minutes avant l'expérience de distension.

L'anticorps anti-BDNF est un anticorps monoclonal dirigé contre le BDNF humain. Il possède l'isotype IgG1 et a été purifié à partir d'un hybridome de souris commercialisé par la Société SIGMA sous la référence B5050. L'anticorps anti-BDNF, de concentration 9 µg/ml a été dilué dans de l'eau stérile au 1/2000^{ème} et a été injecté par la voie i.p. dans un volume de 2 ml/kg, 30 minutes avant l'expérience de distension.

L'anticorps anti-TGFβ (Anti-Pan Transforming growth factor) est la fraction IgG d'un antisérum dirigé contre le TGFβ humain obtenu chez le lapin, commercialisé par la Société SIGMA sous la référence T-9429.

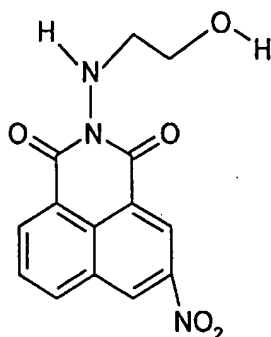
L'anticorps anti-TGF β , de concentration 9 μ g/ml à été dilué au 1/2000ème dans de l'eau stérile et a été injecté par la voie i.p. dans un volume de 2 ml/kg, 30 minutes avant l'expérience de distension.

5 **A.5. Administration de l'antagoniste NGF, ALE-0540**

L'antagoniste NGF, ALE-0540, à des doses de 10 à 100 mg/kg est injecté par la voie i.p. dans un volume de 2ml/kg, 30 minutes avant l'expérience de distension.

La structure du composé ALE-0540 est la suivante :

10



B. Résultats

Exemple 1 : Effet du NGF sur le seuil de douleur du côlon.

15

Des rats naïfs ont été soumis à des expériences de distension à l'aide de ballonnets placés dans la partie distale du côlon. Ceux-ci sont gonflés progressivement jusqu'à l'observation d'une réaction réflexe musculaire abdominale reflétant la survenance de la douleur. La pression appliquée au ballonnet au moment du réflexe musculaire abdominal détermine la valeur du seuil de la douleur du côlon.

20

Les rats reçoivent par voie i.p. soit la sérum albumine bovine seule, soit une solution de sérum albumine contenant de 0,1 ng à 100 ng de NGF.

Les résultats sont représentés sur la figure 1.

25

Pour les rats témoins n'ayant reçu que la sérum albumine, le seuil de douleur du côlon correspond à une pression d'environ 44 mm Hg (Barre vide, à gauche de la figure 1).

On peut observer que des doses croissantes de NGF (0,1 ng à 100 ng) induisent une réduction significative du seuil de douleur du côlon chez les rats naïfs (Barres pleines). Ainsi, le seuil de douleur du côlon est abaissé à moins de 20 mm Hg pour 1ng de NGF.

5 Les résultats expérimentaux de l'exemple 1 montrent donc que le NGF fait fonction de médiateur des douleurs viscérales chroniques.

Exemple 2 : Effet d'un anticorps anti-NGF sur le seuil de douleur du côlon chez des rats préalablement traités par le TNBS.

10

L'induction d'une allodynie chronique du côlon a été réalisée par injection de TNBS à des rats, sept jours avant l'expérience, comme indiqué dans la section Matériels et Méthodes.

15 Il a été expérimentalement vérifié qu'aucune situation de type inflammatoire n'est observée chez les rats soumis à l'expérience.

En particulier, le niveau d'activité de la myéloperoxydase dans les cellules du côlon proximal prélevées chez des rats sept jours après injection de TNBS a permis d'observer des niveaux d'activité de myéloperoxydase d'environ 30 U/mg de protéines, alors qu'un niveau d'activité d'environ 130 U/mg de protéines avait été observé dans des
20 cellules de côlon proximal de rats au jour de l'injection.

1 U est la quantité d'enzyme qui détermine une augmentation de l'absorbance à 470 nm de 1,0 par minute à pH 7,0 et à 25°C, calculée par rapport à la vitesse initiale avec pour substrat le guaiacol.

25 La technique de mesure de l'activité myéloperoxydase utilisée est celle décrite par GRISHAM et al. (1990, Methods in enzymology, vol. 186: 729-742).

Les résultats sont présentés sur la figure 2.

La valeur témoin du seuil de sensibilité à la douleur chez les rats naïfs est représentée sous la forme d'une ligne à environ 44 mm de Hg.

30 Les barres représentent respectivement de gauche à droite:

(a) la valeur moyenne du seuil de la douleur (+/- SEM) chez des rats traités par le TNBS;

(b) la valeur moyenne du seuil de la douleur (+/- SEM) chez des rats traités par le TNBS, auxquels a été administré l'anticorps anti-NGF;

35 (c) la valeur moyenne du seuil de la douleur (+/- SEM) chez des rats traités par le TNBS, auxquels a été administré l'anticorps anti-BDNF;

(d) la valeur moyenne du seuil de la douleur (+/- SEM) chez des rats traités par le TNBS, auxquels a été administré l'anticorps anti-TGFβ.

Le seuil de douleur du côlon chez des rats traités par le TNBS est fortement réduit (environ 17 mm Hg), par rapport aux rats témoins (environ 44 mm Hg).

5 L'administration d'anticorps anti-NGF (1ml/kg à la dilution 1/2000) inverse l'effet du TNBS sur le seuil de douleur colique. En effet un seuil de douleur de 37,7 +/- 1,7 mm Hg, est obtenu chez les rats recevant l'anticorps anti-NGF contre 16,9 +/- 1.5 mm Hg pour les rats non traités par l'anticorps anti-NGF.

Un P inférieur à 0,001 a été obtenu par test de Student.

10 En revanche, aucune modification du seuil de douleur du côlon n'est observée chez les rats traités par le TNBS auxquels on a administré l'anticorps anti-BDNF ou l'anticorps anti-TGF β .

Il apparaît donc que, parmi les neurotrophines, seul le NGF soit impliqué en tant que médiateur dans les situations physiopathologiques de douleurs viscérales chroniques.

15 Cet exemple montre clairement qu'un composé antagoniste du NGF, tel que l'anticorps anti-NGF utilisé dans ces expériences, est capable de ramener le seuil de douleur du côlon à un niveau comparable à celui retrouvé chez les rats témoins chez lesquels aucune allodynie chronique du côlon n'a été induite.

20 Ces résultats montrent que l'action du NGF sur les nerfs sensoriels viscéraux contribuent au développement de l'hypersensibilité viscérale et qu'un composé antagoniste du NGF est thérapeutiquement efficace dans ce type de troubles digestifs spécifiques et plus généralement dans les douleurs viscérales chroniques.

Revendications

- 5 1. Utilisation d'un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement des douleurs viscérales chroniques.
- 10 2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) se lie audit facteur de croissance des nerfs.
3. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que le composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) est un anticorps se liant spécifiquement au facteur de croissance des nerfs (NGF).
- 15 4. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) se lie au récepteur Tyrosine kinase A du facteur de croissance des nerfs.
- 20 5. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le médicament est destiné à la prévention ou au traitement des douleurs viscérales chroniques dues à un désordre physiologique tel que la dysménorrhée, la dyspepsie, le reflux gastro-œsophagien, la pancréatite, les viscéralgies et le syndrome de l'intestin irritable.
- 25 6. Composition pharmaceutique pour la prévention ou le traitement des douleurs viscérales chroniques, caractérisée en ce qu'elle comprend une quantité pharmaceutiquement efficace d'un composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF), en association avec un ou plusieurs excipients pharmaceutiquement acceptables.
- 30 7. Composition pharmaceutique selon la revendication 6, caractérisée en ce que le composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) se lie audit facteur de croissance des nerfs.
- 35 8. Composition pharmaceutique selon la revendication 7, caractérisée en ce que le composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) est un anticorps se liant spécifiquement au facteur de croissance des nerfs (NGF).

9. Composition pharmaceutique selon la revendication 6, caractérisée en ce que le composé antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF) se lie au récepteur tyrosine kinase A du facteur de croissance des nerfs.

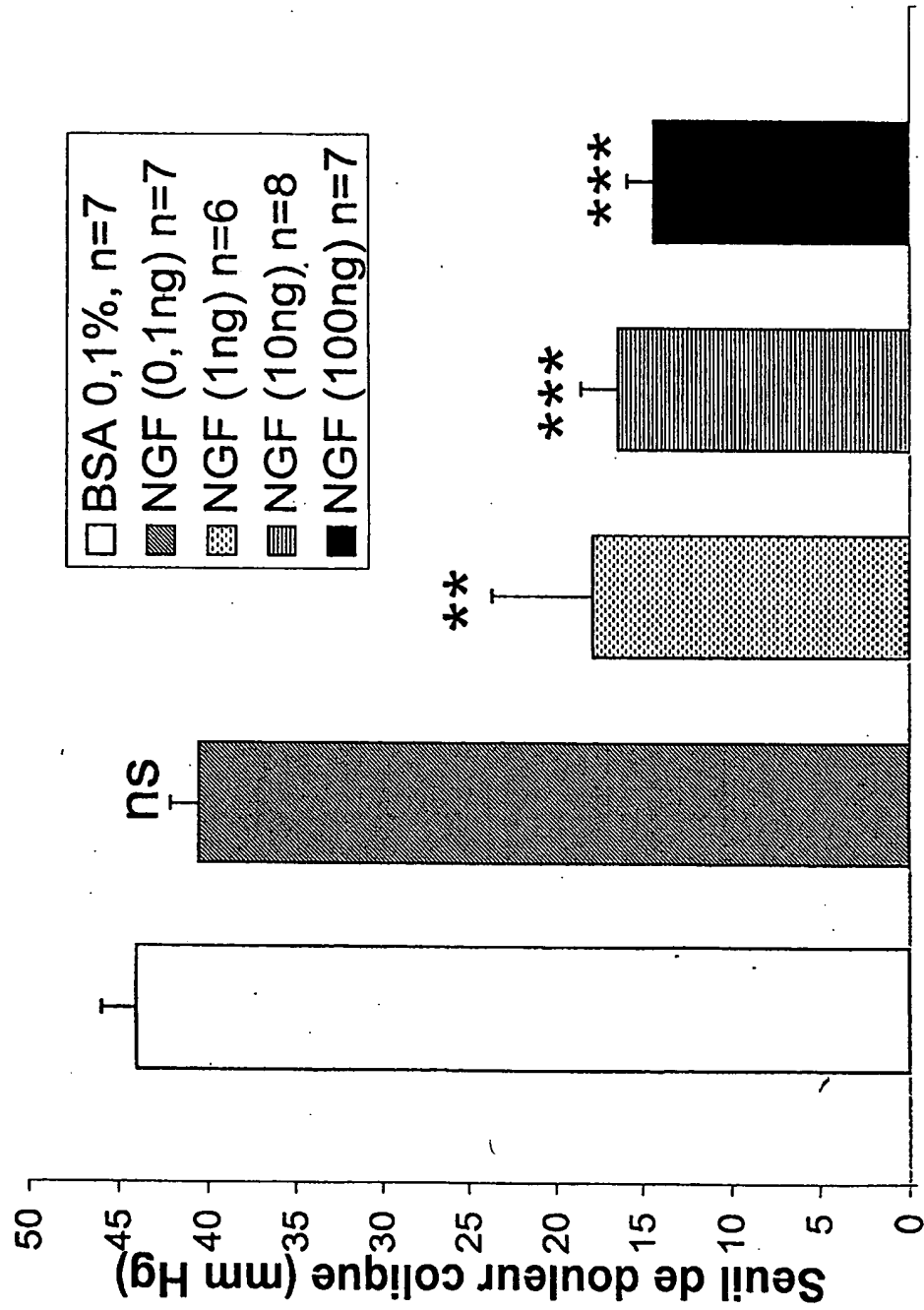
5 10. Composition pharmaceutique selon l'une des revendications 6 à 9, caractérisée en ce qu'elle est destinée à la prévention ou au traitement des douleurs chroniques viscérales dues à un désordre physiologique tel que la dysménorrhée, la dyspepsie, le reflux gastro-œsophagien, la pancréatite, les viscéralgies et le syndrome de l'intestin irritable.

10

11. Composition pharmaceutique selon l'une des revendications 6 à 10, caractérisée en ce qu'elle est formulée pour l'administration orale.

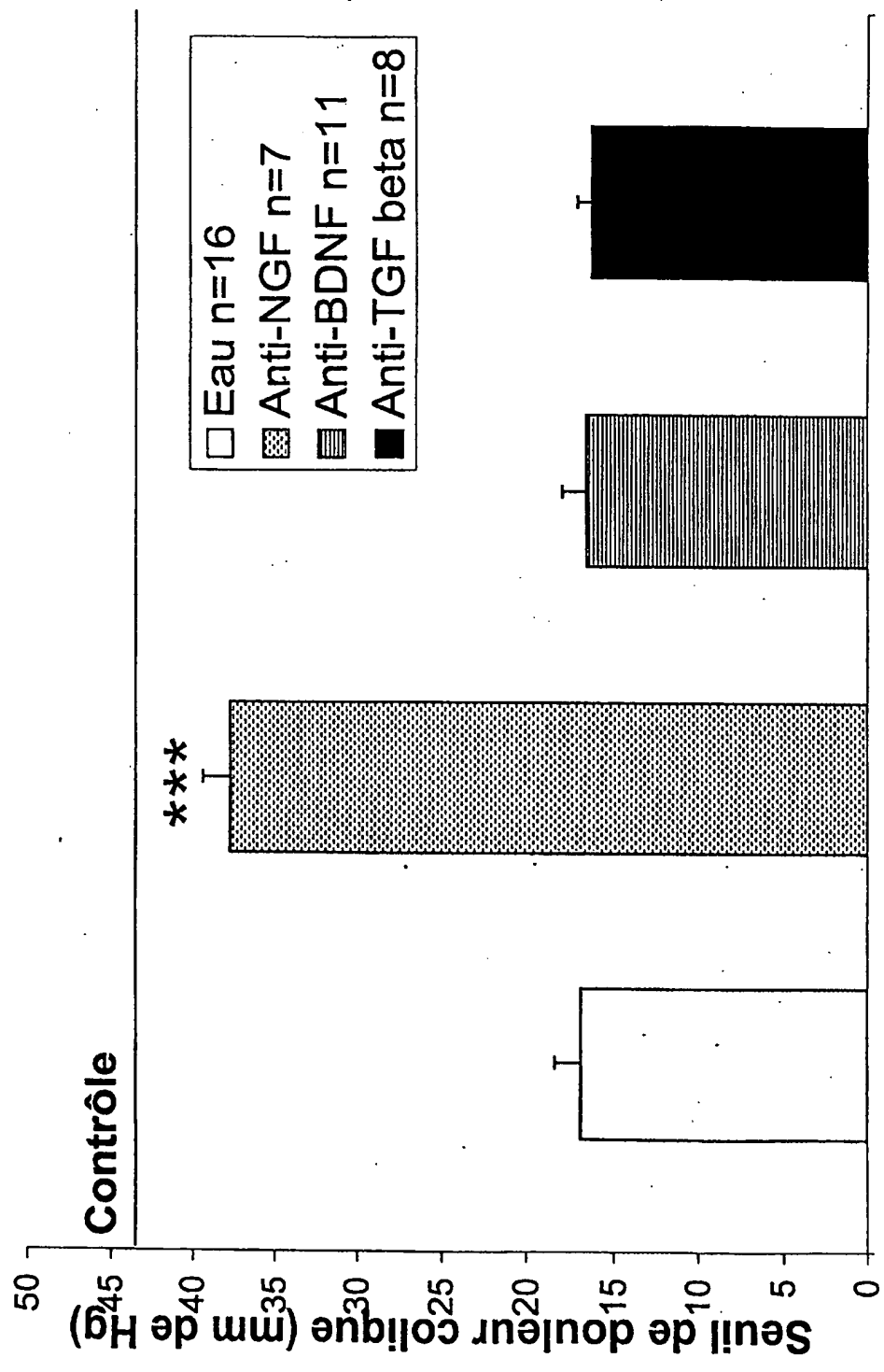
1/2

1/2
FIGURE 1



2/2

2/2
FIGURE 2





RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

2807660

N° d'enregistrement
national

FA 585868
FR 0004782

| DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS | | Revendications concernées | Classement attribué à l'invention par l'INPI |
|---|---|---|---|
| Catégorie | Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes | | |
| X | DMITRIEVA N ET AL: "The role of NGF in a model of persistent visceral pain." SOCIETY FOR NEUROSCIENCE ABSTRACTS, vol. 21, no. 1-3, 1995, page 550 XP000980337 25th Annual Meeting of the Society for Neuroscience; San Diego, California, USA; November 11-16, 1995 ISSN: 0190-5295 * abrégé * | 1-3,5-8, 10 | A61K31/473 A61P15/08 A61P1/06 A61P1/18 A61P1/14 |
| X | MCMAHON STEPHEN B: "NGF as a mediator of inflammatory pain." PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY OF LONDON B BIOLOGICAL, vol. 351, no. 1338, 1996, pages 431-440, XP000980634 1996 ISSN: 0962-8436 * page 434, colonne 2, dernier alinéa - page 435, colonne 2 * | 1-3,5-8, 10 | |
| D,X | WO 98 17278 A (ALLELIX BIOPHARMA ; CHEN XIANNONG (CA); TEHIM ASHOK (CA)) 30 avril 1998 (1998-04-30) | 6-11 | A61K |
| Y | * page 2, ligne 13-15 * * page 15, ligne 17 * * exemple 3 * * revendications * | 1-5 | |
| -/-- | | | |
| Date d'achèvement de la recherche | | Examineur | |
| 26 janvier 2001 | | Veronese, A | |
| CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES | | | |
| X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire | | T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant | |

1
EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

2807660

N° d'enregistrement
national

FA 585868

FR 0004782

| DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS | | Revendications concernées | Classement attribué à l'invention par l'INPI |
|--|---|--|--|
| Catégorie | Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes | | |
| X | OWOLABI JOSHUA B ET AL: "Characterization of antiallodynic actions of ALE-0540, a novel nerve growth factor receptor antagonist, in the rat." JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS, vol. 289, no. 3, juin 1999 (1999-06), pages 1271-1276, XP000980396 ISSN: 0022-3565 | 6-11 | |
| Y | * le document en entier * | 1-5 | |
| E | WO 00 73344 A (SIRS SOCIETA ITALIANA PER LA R ;NOVAK MICHAL M (SK)) 7 décembre 2000 (2000-12-07) * page 2, ligne 16-22 * * page 6, ligne 4,5,14,15,26,27 * | 6,9-11 | |
| D,X | WO 97 21732 A (UNIV MCGILL ;LESAUTEUR LYNNE (CA); SARAGOV H URI (CA)) 19 juin 1997 (1997-06-19) * le document en entier * | 6,9-11 | DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7) |
| D,X | WO 97 15593 A (UNIV KINGSTON) 1 mai 1997 (1997-05-01) * le document en entier * | 6,9,11 | |
| X | WO 92 08483 A (CHILDRENS MEDICAL CENTER) 29 mai 1992 (1992-05-29) * revendications * | 6-11 | |
| | -/-- | | |
| Date d'achèvement de la recherche | | Examineur | |
| 26 janvier 2001 | | Veronese, A | |
| CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES | | | |
| <p>X : particulièrement pertinent à lui seul</p> <p>Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie</p> <p>A : antérie-plan technologique</p> <p>O : divulgation non-écrite</p> <p>P : document intercalaire</p> | | <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention</p> <p>E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.</p> <p>D : cité dans la demande</p> <p>L : cité pour d'autres raisons</p> <p>& : membre de la même famille, document correspondant</p> | |



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

2807660

N° d'enregistrement
national

FA 585868

FR 0004782

| DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS | | Revendications concernées | Classement attribué à l'invention par l'INPI |
|---|--|---|--|
| Catégorie | Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes | | |
| Y | <p>FRIESS H ET AL: "The presence of nerve growth factor and its receptor is associated with pain in chronic pancreatitis." GASTROENTEROLOGY, vol. 116, no. 4 PART 2, avril 1999 (1999-04), page A1313 XP000980694 Digestive Disease Week and the 100th Annual Meeting of the American Gastroenterological Association; Orlando, Florida, USA; May 16-19, 1999 ISSN: 0016-5085 * abrégé *</p> | 1-5 | |
| Y | <p>WINSTON JOHN H ET AL: "NGF expression and release in experimental and human pancreatitis and its potential role in the pathogenesis of pain in chronic pancreatitis." GASTROENTEROLOGY, vol. 118, no. 4 Suppl. 2 Part 1, avril 2000 (2000-04), page AGA A633 XP000978874 101st Annual Meeting of the American Gastroenterological Association and the Digestive Disease Week.; San Diego, California, USA; May 21-24, 2000 ISSN: 0016-5085 * abrégé *</p> | 1-5 | <p>DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)</p> |
| Date d'achèvement de la recherche | | Examineur | |
| 26 janvier 2001 | | Veronese, A | |
| CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES | | | |
| <p>X: particulièrement pertinent à lui seul Y: particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A: arrière-plan technologique O: divulgation non-écrite P: document intercalaire</p> | | <p>T: théorie ou principe à la base de l'invention E: document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D: cité dans la demande L: cité pour d'autres raisons &: membre de la même famille, document correspondant</p> | |

1
EPO FORM 1503 12.98 (P04C35)

**RECHERCHE INCOMPLÈTE
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE C**

Numéro de la demande

FA 585868
FR 0004782

Certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche ou ont fait l'objet d'une recherche incomplète, à savoir:

Revendications ayant fait
l'objet de recherches incomplètes:
1-11

Raison:

La définition "antagoniste du facteur de croissance des nerfs (NGF)" présente dans les revendications 1-3,5-9 a trait à une très grande variété de composés.

On a cherché à définir le produit/composé par son profil pharmacologique. Un fondement et/ou un exposé ne peut cependant être trouvé que pour un nombre très restreint de ces composés revendiqués. En plus, les revendications présentes ont trait à un composé défini en faisant référence à une caractéristique ou propriété souhaitable, à savoir la capacité de se lier au facteur de croissance des nerfs ou au récepteur Tyrosine Kinase A du facteur de croissance des nerfs.

Une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible (Article L. 612-5 et Article L. 612-6 CPI). En conséquence, la recherche n'a été effectuée que pour les parties des revendications dont l'objet apparaît être clair, fondé et suffisamment exposé, à savoir les parties concernant l'utilisation des composés mentionnés dans la description et pour laquelle des résultats pharmacologiques sont donnés et aussi bien que pour l'idée générale d'utiliser des antagonistes des NGF pour le traitement des douleurs viscérales.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.